

2) сосудорасширяющий эффект карведилола связан с высвобождением эндотелиального оксида азота;

3) коронарорасширяющие свойства карведилола не обусловлены взаимодействием с каким-либо из подтипов адренорецепторов.

Литература

1. Chlopicki S., Kozlovski V. I., Gryglewski R.J. NO-dependent vasodilation, induced by nebivolol in coronary circulation is not mediated by beta-adrenoceptors or by 5 HT_{1A} receptors // Journal of Physiology and Pharmacology. – 2002. Vol. 53, N 4. – P. 615-624.
2. Cocks T.M., Angus J.A. Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin // Nature. – 1983. – Vol. 305. P. 627-630.
3. Hattori Y., Nakaya H., Endou M. et al. Vascular effects of carvedilol, a new beta-adrenoceptor antagonist with vasodilating properties, in isolated canine coronary artery // Journal of Cardiovascular Pharmacology. – 1989. – Vol. 13, N 4. - P. 572-579.
4. Kozlovski V.I., Chlopicki S., Gryglewski R.J., Effects of tw beta-3 agonists, CGP 12177A and BRL 37344, on coronary flow and contractility in isolated guinea pig heart // Journal of Cardiovascular Pharmacology. – 2003. Vol. 41, N 5. – P. 706-713.
5. Poole-Wilson P.A., Swedberg K., Cleland J.G. et al. Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure in the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET): randomised controlled trial // Lancet. - 2003. - Vol. 362. – P. 7-13.
6. Trochu J.N., Leblais V., Rautureau Y. et al. Beta-3-adrenoceptor stimulation induces vasorelaxation mediated essentially by endothelium-derived nitric oxide in rat thoracic aorta. // Br. J. Pharmacol. – 1999. – Vol. 128. – P. 69-76.

РОЛЬ ГИПЕРПРОДУКЦИИ И ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА В БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

**Манухина Е.Б., Машина С.Ю., Покидышев Д.А.,
Горячева А.В., Хоменко И.П., Малышев И.Ю.**

НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease characterized by progressive loss of memory and cognitive decline. Both overproduction and deficiency of nitric oxide (NO) contributes to development of AD. Excessive NO exerts a direct neurotoxic effect on brain cells whereas insufficient

production of endothelial NO and endothelial dysfunction of cerebral blood vessels result in brain hypoperfusion and disorder of NO-dependent protective mechanisms. This is why it is important to seek for ways of “bidirectional” modulation of NO production.

Adaptation to hypoxia provides the most efficient non-drug stimulation of NO synthesis. In our experiments, prior adaptation of rats to hypobaric hypoxia improved cognitive functions and restricted the decrease in NO production on the model of AD produced by injection of a neurotoxic beta-amyloid fragment into n. basalis magnocellularis. At the same time, the inhibitor of NO synthesis nitroarginine potentiated memory disorders typical for AD.

There are to possible mechanisms, which might underlie the simultaneous adaptive protection against NO overproduction and deficiency. First, NO overproduction is restricted by NO itself through the negative feedback and, therefore, the prior increase in NO synthesis induced by adaptation may contribute to the adaptive prevention of NO overproduction. Second, various types of adaptation are consistently associated with formation of so-called NO stores (NO-containing complexes) in vascular wall. The formation of NO stores is apparently an adaptive response, which can protect the organism against toxic effects of excessive NO; at the same time NO stores can serve as an additional non-enzymic source of NO to compensate for its deficiency.

Therefore the use of adaptation to hypoxia may be promising for non-drug prevention and, possibly, early treatment of AD.

Болезнь Альцгеймера (БА) – это нейродегенеративное заболевание центральной нервной системы, характеризующееся прогрессирующей потерей памяти и другими когнитивными расстройствами. В настоящее время БА поражает от 5 до 10% людей старше 65 лет, и с увеличением возраста ее частота почти удваивается каждые 5 лет. БА сопровождается образованием токсичных сенильных бляшек, которые представляют собой внутри- и внеклеточные отложения пептида бета-амилоида (A β). Отложение агрегированного A β инициирует многочисленные нейротоксические процессы, ключевыми из которых считаются эксайтотоксичность, связанная с избыточной глутаматергической активацией NMDA-рецепторов, повышение концентрации Ca²⁺ в нейронах, оксидативный стресс, нейровоспаление и нарушения синтеза оксида азота (NO) [6].

В мозге присутствуют все 3 изоформы фермента NO-синтазы (NOS) – нейрональная (nNOS), индуцибельная (iNOS) и эндотелиальная (eNOS). nNOS обнаруживается в нейронах неокортекса, гиппокампа, ствола мозга и в меньшей степени в других областях, причем только 1-2% всей популяции нейронов экспрессируют nNOS, за исключением мозжечка, где ее экспрессируют почти все гранулярные клетки. Несмотря на такой малый процент NO-содержащих тел нейронов, они разветвлены так широко, что практически каждый нейрон коры находится под действием их терминалей. Индуцибельная NOS в здоровом мозге отсутствует. Однако после инсульта, травмы, бактериальной инфекции она выявляется в астроцитах и микроглии. Эндотелиальная NOS обнаружена в мозге не только в эндотелиальных клетках, но и в нейронах гиппокампа, зубчатой извилины, обонятельной луковицы и мозжечка [2].

В ЦНС NO выполняет функции вазодилатора, нейротрансмиттера, нейромодулятора и цитопротектора. В качестве вазодилатора NO регулирует мозговое кровообращение. Кроме того, NO, синтезируемый eNOS, ингибирует адгезию тромбоцитов и лейкоцитов к стенкам сосудов, что ограничивает провоспалительные процессы, агрегацию тромбоцитов, оксидативный стресс и стимулирует ангиогенез [10].

В качестве нейротрансмиттера NO регулирует процессы долговременной потенциации -- длительно сохраняющегося повышения эффективности синаптической передачи, которое наблюдается после высокочастотных разрядов возбуждающих нейронов в коре и гиппокампе. Считается, что долговременная потенциация играет очень важную роль в процессах обучения и памяти. Кроме того, NO участвует в росте аксонов и синаптогенезе в процессе развития. NO вовлечен в поведение агрессии, спаривания и питьевое поведение, а также участвует в ноцицепции (восприятии боли), в особенности на уровне спинного мозга [2].

NO выполняет нейромодуляторные функции, регулируя высвобождение ацетилхолина, дофамина и гипоталамо-гипофизарных гормонов. За счет этого NO оказывает антистрессорное действие на центральном уровне [1].

Наконец, цитопротекторное действие NO состоит в том, что он предупреждает глутаматную цитотоксичность, опосредованную гиперактивацией NMDA-рецепторов, которая играет важную роль при инсультах, ишемии мозга и нейродегенерации (Рис. 1).

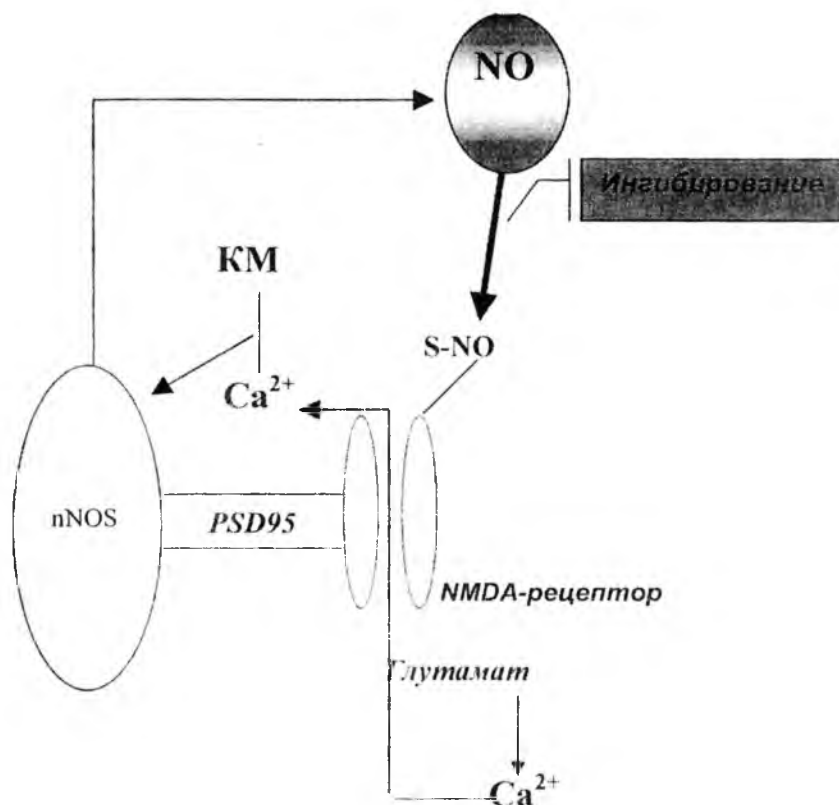


Рисунок 1. Цитопротекторный механизм NO-зависимого ограничения глутаматной цитотоксичности.

PSD95 – адапторный белок postsynaptic density protein 95, nNOS– нейрональная NO-синтаза, KM – кальмодулин.

Нейрональная NOS физически соединена с NMDA-рецепторами через адапторный белок PSD95 (postsynaptic density protein 95). При активации NMDA-рецепторов Ca^{2+} входит в цитозоль, связывается с кальмодулином и активирует nNOS. Синтезированный NO нитрозилирует NMDA-рецептор и инактивирует его [7].

Роль NO в развитии БА определяется, с одной стороны, нейротоксическим действием избытка NO, гиперпродуцируемого nNOS и iNOS, а с другой стороны – нарушениями, связанными с дефицитом

эндотелиального NO. Продукция NO в мозге нарастает на ранних стадиях БА, а затем снижается по мере прогрессирования гибели нейронов [15].

Показано, что Аβ – главный компонент сенильных бляшек – дозозависимо стимулирует синтез NO in vivo, причем по выраженности и динамике эта реакция полностью параллельна реакции в культуре микроглии [5] (Рис. 2). Гиперпродукция NO происходит под действием Аβ

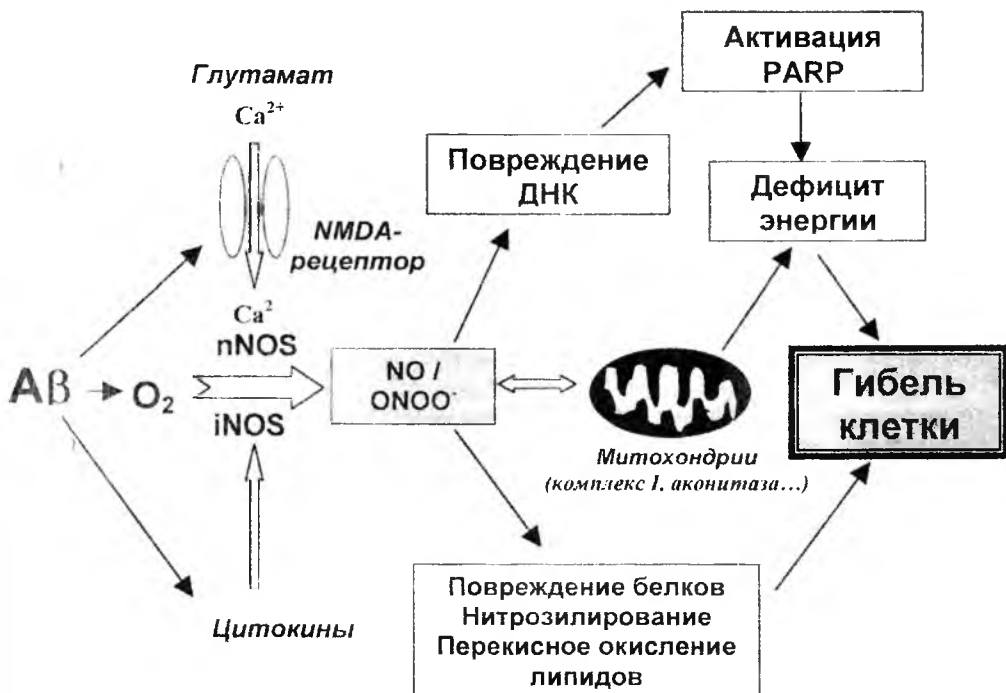


Рисунок 2. Роль NO в развитии нейродегенерации при болезни Альцгеймера. ONOO⁻ - пероксинитрит, PARP - поли(АДФ-рибозо)полимераза, nNOS – нейрональная NO-синтаза, iNOS – индуцибельная NO-синтаза, Аβ - бета-амилоид.

в результате активации nNOS в нейронах и iNOS в микроглии и астроцитах. Вызванные Аβ оксидативный стресс, усиленное высвобождение глутамата и активация продукции различных цитокинов приводят к индукции iNOS в микроглии, которая образует кластеры вокруг сенильных бляшек, и астроцитах, которые также агрегируются вблизи Аβ [6].

Поскольку Ca^{2+} гомеостаз является основным регулятором nNOS и eNOS, его нарушение, вызванное Аβ, представляет собой важное звено связи между NO и БА. Показано, что под действием Аβ внутриклеточная концентрация Ca^{2+} прогрессивно нарастает [9].

Главный механизм токсического действия NO – реакция NO с супероксидом с образованием пероксинитрита. Это самая быстрая из всех известных биохимических реакций. Пероксинитрит высокореактивен и может интенсивно окислять белки, липиды и ДНК и образовывать при расщеплении нейротоксичный гидроксил-радикал. Кроме того, пероксинитрит ингибирует захват клетками глутамата, что способствует глутаматной токсичности. NO нитрозилирует и тем самым ингибирует белки-ферменты дыхательной цепи митохондрий и цикла Кребса. В результате снижается синтез АТФ. Повреждение ДНК активирует ядерный фермент поли(АДФ-рибозо)полимеразу (PARP). Массивная активация PARP приводит к АДФ-рибозилированию и истощению запасов НАД. В попытке ресинтезировать НАД истощается АТФ. В условиях нарушения генерации энергии в клетке, вызванной дисфункцией митохондрий, такая потеря НАД и АТФ ведет к гибели клеток. Эта гибель может происходить по пути некроза или апоптоза. В низких концентрациях NO оказывает антиапоптотическое действие, а в высоких – проапоптотическое, причем в обоих случаях NO действует через каспазы 1 и 3 [3, 4, 6].

На рис. 3 перечислены факторы риска БА, выявленные наиболее крупным - Роттердамским и другими эпидемиологическими исследованиями. Большинство из этих факторов риска присутствует не только на ранних стадиях БА, но зачастую появляются за несколько десятилетий до развития первых симптомов когнитивного дефицита. Интересно отметить, что 18 из 25 факторов риска БА связаны с нарушением продукции эндотелиального NO. В то же время, оказалось, что действие основных лекарственных препаратов, применяемых для профилактики или лечения БА, можно объяснить тем, что все они, за исключением некоторых нестероидных противовоспалительных препаратов, способствуют улучшению эндотелиальной функции или замедляют разрушение NO свободными радикалами [13].

В последние годы сформировалась гипотеза о ведущей роли дефицита NO в развитии БА. Согласно этой гипотезе, БА начинается, если одновременно присутствуют два явления – нормальное снижение эндотелиальной продукции NO и мозгового кровотока в пожилом возрасте и наличие сосудистого фактора риска БА, который дополнительно ослабляет продукцию NO. В этих условиях развивается так называемый синдром достижения критического порога гипоперфузии мозга (critically attained threshold of cerebral hypoperfusion, CATCH) [14]. Снижение перфузии мозга может служить прогностическим критерием развития БА на стадии минимальных когнитивных нарушений, которые проявляются



Рис.3. Факторы риска болезни Альцгеймера. Курсивом выделены факторы риска, связанные с нарушением продукции эндотелиального NO.

как изолированное ослабление памяти при сохранении других когнитивных функций. У большинства больных с гипоперфузией гиппокампально-амигдаллярного комплекса в течение последующих 3 лет развивается БА [12].

Синдром СATCH приводит к утрате пульсирующих изменений кровотока, необходимых для постоянного высвобождения NO (Рис. 4).

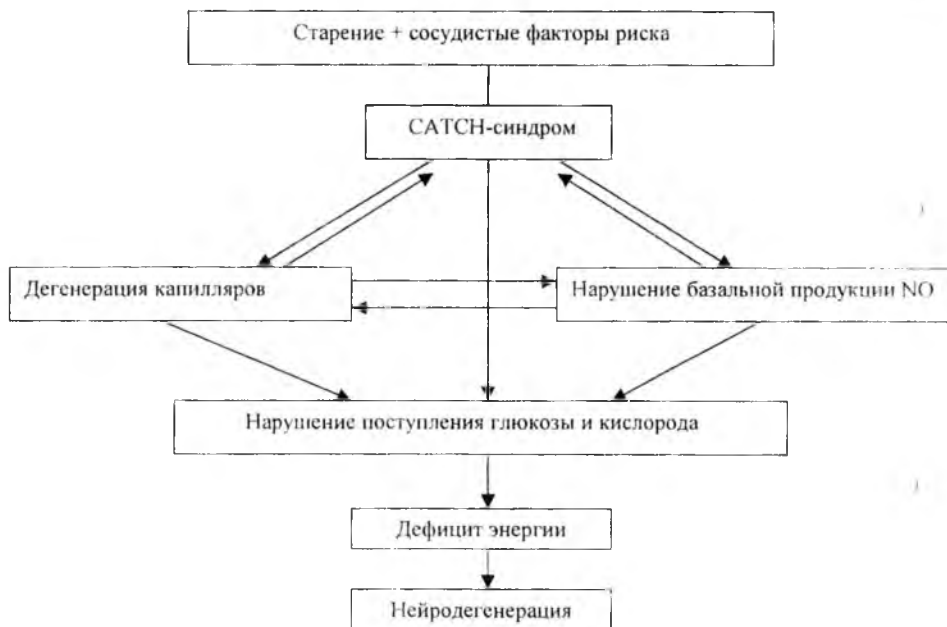


Рисунок 4. Роль нарушений мозгового кровообращения в развитии болезни Альцгеймера. Пояснения в тексте.

Дефицит NO, в свою очередь вызывает патологические изменения морфологии эндотелиоцитов и еще больше ухудшает перфузию мозга, и порочный круг замыкается. Синдром СATCH приводит к снижению поступления глюкозы и кислорода к нейронам и глии. В результате развивается цепь метаболических нарушений, включая активацию глиальных клеток и оксидативный стресс. Далее наблюдаются все уже обсуждавшиеся последствия «энергетического кризиса» - нарушения синтеза белка, воспаление, усиленное образование Аβ и нейрофибриллярных клубков и нейродегенерация [13].

У пациентов с БА интратекальный уровень нитратов достоверно отрицательно коррелирует со степенью ослабления интеллектуальных

функций, что свидетельствует о нейропротекторном действии NO при БА [15]. В то же время, васкулопатия при БА коррелирует со сниженным уровнем экспрессии eNOS в мозговых сосудах. Одновременно выявляется повышение содержания проапоптотического фактора p53 в сосудистой гладкой мышце и эндотелиальных клетках, что указывает на важную роль ослабления экспрессии eNOS в нейродегенерации. Стойкое снижение экспрессии eNOS и продукции NO в мозговых сосудах приводит к нарушению эндотелийзависимых вазодилататорных реакций и ухудшению удаления продуктов обмена и токсинов из внеклеточного пространства в связи со снижением проницаемости капилляров. В то же время, стимулирование активности eNOS может уменьшить риск возрастной нейродегенерации [11]. Поэтому в настоящее время БА все чаще рассматривают как сосудистое расстройство с нейродегенеративными последствиями [13, 14].

Помимо нарушения регуляции мозгового кровотока, NO в недостаточном количестве уже не может блокировать адгезию гранулоцитов к сосудистым стенкам и предупреждать провоспалительные реакции. Это происходит из-за того, что NO утрачивает тоническое ингибирующее действие на фактор транскрипции NFkB, который опосредует активацию провоспалительных медиаторов – TNF- α , IFN- β , IL-2 и IL-6. В норме NO стабилизирует эндогенный ингибитор NFkB – IkB α , прямо ингибирует связывание NFkB с соответствующей промоторной последовательностью ДНК и экспрессию цитокинов. Все эти механизмы не действуют в условиях дефицита NO [11, 13, 14].

Таким образом, как гиперпродукция, так и дефицит NO играют роль в развитии и прогрессировании БА. Избыток NO обладает прямым нейротоксическим действием, тогда как недостаточная продукция эндотелиального NO и дисфункция эндотелия мозговых сосудов приводят к гипоперфузии мозга и нарушению NO-зависимых протекторных механизмов. Поэтому важной задачей является поиск возможностей «разнонаправленного» модулирования продукции NO.

Хроническое нефармакологическое стимулирование синтеза NO может быть достигнуто с помощью специальных диет или дозированной адаптации к факторам среды, таким как гипоксия, физические нагрузки, холод, стресс, тепло и т.д. Наиболее эффективное стимулирование синтеза NO достигается путем адаптации к гипоксии и физических тренировок – двух видов адаптации, которые наиболее широко используются в эксперименте и клинике. Оба вида адаптации усиливают как активность, так и экспрессию eNOS. Именно это, по-видимому, обуславливает хорошо известный профилактический и лечебный эффект адаптации при сердечно-сосудистых заболеваниях, связанных с дисфункцией эндотелия. В то же время, адаптация к факторам среды оказалась эффективной не

только при дефиците, но и при гиперпродукции NO, сопровождающей острый инфаркт миокарда, тепловой шок и анафилактический шок [8].

Действительно, в наших экспериментах адаптация крыс к гипобарической гипоксии улучшала когнитивные функции и ограничивала снижение продукции NO, вызванное введением Аβ в n. basalis magnocellularis. В то же время, ингибитор синтеза NO нитроаргинин усиливал нарушения памяти, вызванные Аβ.

Существует два возможных механизма, за счет которых адаптация может одновременно защищать организм от дефицита и гиперпродукции NO [8]. Во-первых, предварительное адаптивное повышение уровня NO может предупредить гиперпродукцию NO по механизму отрицательной обратной связи. Во-вторых, развитие адаптации сопровождается образованием депо NO (NO-содержащих комплексов) в стенке сосудов. Физиологические эксперименты показали, что, с одной стороны, депонирование избытка NO предупреждает его повреждающее действие, а с другой стороны, депо NO может служить дополнительным неферментативным источником NO, компенсирующим дефицит NO.

Таким образом, как избыточная, так и недостаточная продукция NO может повысить уязвимость мозга к нейродегенерации и сопутствующим когнитивным расстройствам, а адаптивное стимулирование синтеза NO может предупредить эти разнонаправленные нарушения метаболизма NO. Поэтому применение дозированной адаптации к факторам среды представляется перспективным для нефармакологической профилактики и, возможно, лечения ранних стадий БА.

Работа выполнена при поддержке NWO (грант 047.011.2001.010) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант 03-04-49065).

Литература

1. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю. Стресс-лимитирующая система оксида азота // Российский физиол. журнал им. И.М.Сеченова. – 2000. - № 10. - С. 1283-1292.
2. Barnaño D.E., Ferris C.D., Snyder S.H. Atypical neural messengers // Trends in Neurosciences – 2001. –V.24. – P.99-106
3. Calabrese, V., Bates, T.E., Stella, A.M. NO synthase and NO-dependent signal pathways in brain aging and neurodegenerative disorders: the role of oxidant/antioxidant balance // Neurochem. Res. – 2000. – V.25. – P.1315-1341.
4. Dawson V.L., Dawson T.M. Nitric oxide in neurodegeneration // Progr. Brain Res. - 1998. - V.118. – P.215-229
5. Ishii K., Muelhauser F, Liebl U., Picard M., Kuhl S., Penke B., Bayer T., Wiessler M., Hennerich M., Beyreuther K., Hartmann K., Fassbender K. Subacute NO generation induced by Alzheimer's β-amyloid in the living

- brain: reversal by inhibition of the inducible NO synthase // FASEB J. – 2000. – V.14. – P.1485-1489.
6. Law A., Gauthier S., Quirion R. Say NO to Alzheimer's disease: the putative links between nitric oxide and dementia of the Alzheimer's type // Brain Res. Rev. – 2001. – V.35. – P.73-96.
 7. Lipton S.A., Choi Y.-B., Pan Z.-H., Lei S.Z., Chen H.-S.B., Sucher N.J., Loscalzo J., Singel D.J., Stamler J.S. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds // Nature. – 1993. – V.364. – P.626-632.
 8. Manukhina. E.B., Malyshev, I.Yu. Role of nitric oxide in protective effects of adaptation // Adaptation Biology and Medicine. (J.Moravec, N.Takeda, P.K.Singal, eds.) Narosa Publishing House, New Delhi. – 2002. – V.3. – P.312-327.
 9. Mattson M.P., Cheng B., Davis D., Bryant K., Lieberburg I., Rydel R.E. Beta-amyloid peptides destabilize calcium homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity // J. Neurosci. – 1992. – P.12. – P.376-389.
 10. Maxwell A.J. Mechanisms of dysfunction of the nitric oxide pathway in vascular diseases // Nitric Oxide. – 2002. – V.6. – P.101-124.
 11. McCarty M.F. Vascular nitric oxide, sex hormone replacement, and fish oil may help to prevent Alzheimer's disease by suppressing synthesis of acute-phase cytokines // Med. Hypotheses. – 1999. – V.53. – P.369-374.
 12. Morris J.C. The nosology of dementia // Neurol. Clin. – 2000. – V.18. – P.773-788.
 13. Torre de la J.C. Alzheimer's disease: How does it start? // J. Alzheimer's Dis. – 2002. – V.4. – P.497-512.
 14. Torre de la J.C. Vascular basis of Alzheimer's pathogenesis // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2002. – V.977. – P.196-215.
 15. Torreilles F, Touchon J. Pathogenic theories and intrathecal analysis of the sporadic form of Alzheimer's disease // Prog. Neurobiol. – 2002. – V.66. – P.191-203.

ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И МЕТОДЫ ЕЕ КОРРЕКЦИИ

Петрищев Н.Н., Власов Т.Д.

***Государственный медицинский университет им.акад. И.П.Павлова,
Санкт-Петербург***

In clinical practice the functional activity of endothelium is analyzed by means of instrumental method. For this purpose endothelium – dependent vasodilatation has been analyzed in pharmacological probes, probe with